



Wirtschaftspatent

Ertellt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes
zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11) **202 892**

Int.Cl.³

3(51) C 12 P 33/00
C 12 N 1/16

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 P/ 2360 563

(22) 21.12.81

(44) 05.10.83

(71) siehe (72)

(72) SEEGER, BRIGITTE; SCHLICHT, DORIS; STAMM, BARBARA; DD;

(73) siehe (72)

(74) VEB GAERUNGSCHEMIE DESSAU, 4500 DESSAU, JOHANN-MEIER-STR. 12

(54) **VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG ERGOSTERINREICHER HEFE**

(57) Zur Gewinnung von Hefe mit Ergosteringehalten von 0,8–1,5% der Trockensubstanz wird bei Gärprozessen anfallende Hefe wie z. B. Melassesprithefe oder Bierhefe einer aeroben Nachfermentation in Gegenwart von Ammoniumstickstoff, Phosphationen und einer Kohlenstoffquelle unterworfen. Als Kohlenstoffquelle dienen zuckerhaltige und ethanolhaltige Rohstoffe wie z. B. Melasse und vergorene, enthefte Maischen oder Zucker und Ethanol. Die in üblicher Weise aufgearbeitete Hefe kann zur Gewinnung von Ergosterin oder nach UV-Bestrahlung als Vitamin-D₂-haltige Futtermittelkomponente benutzt werden.

236056 6

Titel

Verfahren zur Herstellung von ergosterinreicher Hefe

Anwendungsgebiet

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer ergosterinreichen Hefe unter Ausnutzung der bei industriellen Gärprozessen anfallenden Gärhefe.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Zur Gewinnung von Vitamin D₂ oder Vitamin-D₂ enthaltenden Futtermittelkomponenten wird als Ausgangsmaterial eine Hefe gebraucht, die mindestens 0,7 % Ergosterin enthält, wenn eine Weiterverarbeitung wirtschaftlich sein soll.

Ein solcher Ergosteringehalt wird jedoch unter Produktionsbedingungen bestenfalls von Backhefen erreicht, nicht aber von den billiger herzustellenden Futterhefen. Diese enthalten im allgemeinen nur 0,1 - 0,3 % Ergosterin.

Es gibt eine große Anzahl von Arbeiten, die sich mit dem Problem befassen, den Ergosteringehalt von Hefen, besonders von Saccharomyces-Hefen, zu erhöhen. Diese Arbeiten sind jedoch meist rein wissenschaftlicher Natur, die angewandten Fermentationsbedingungen sind wegen zu geringer Hefekonzentration, niedriger Ausbeute an Hefemasse, langer Fermentationsdauer oder wegen der Anwendung teurer Nährsubstrate oder Zusatzstoffe für eine Großproduktion nicht wirtschaftlich.

Es sind aber auch technische Verfahren zur Gewinnung von ergosterinreicher Hefe mit ökonomisch günstigeren Parametern beschrieben worden: Nach

US Pat ntnr. 2817624 können Hefen mit extrem hohen Ergosteringehalten gewonnen werden, allerdings ist dabei wegen des Einsatzes spezieller, selektierter Hefestämme eine sterile Arbeitsweise erforderlich.

Ergosteringehalte über 1 % der Trockensubstanz werden nach US Patentnr. 2059980 und US Patentnr. 2276710 durch Zusatz oxydierender Agenzien zum Fermentationsgemisch erhalten und nach DRP 720 007 durch Einsatz einer Glycerimaische als Kohlenstoffquelle.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein einfaches, wirtschaftliches Verfahren zur Gewinnung einer Hefe mit mindestens 0,7 % Ergosteringehalt zu finden, das unter den in der Futterhefeindustrie üblichen Arbeitsbedingungen und nur mit den dort üblichen Nährstoffen ohne kostspielige Zusatzstoffe oder organische Stickstoff- und Wuchsstoffquellen durchführbar ist.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Es ist bekannt, daß unter anaeroben Lebensbedingungen gewachsene Hefen nur wenige Zehntel Prozent Ergosterin enthalten, daß aber beim Übergang von anaeroben zu aeroben Bedingungen eine starke Neigung zur Ergosterinbildung besteht. Diese Tatsache wird hier ausgenutzt, indem die bei industriellen Gärprozessen wie z. B. der Gewinnung von Sprit aus Melasse anfallenden Gärhefen oder andere unter anaeroben Bedingungen gewachsene Hefen einer Nachfermentation unter aeroben Bedingungen unterworfen werden.

Die Hefe vermehrt sich dabei auf etwa die zweifache Menge, der Ergosteringehalt erhöht sich von 0,1 bis 0,2 % auf Werte zwischen 0,8 und 1,5 % je nach Wahl der Fermentationsbedingungen.

Merkmale der Erfindung

Nachdem der Gärprozeß, z. B. eine Melassespritzgärung, abgeschlossen ist, wird die Gärhefe von der Würze absepariert. Die so erhaltene Hefesahne wird in ein neues Fermentationsmedium überführt, das Zucker oder zuckerhaltige Rohstoffe wie z. B. Rübenmelasse, Zuckerrohrmelasse, Zuckersäfte, ein Ammoniumsalz oder Ammoniak und Phosphat oder Phosphorsäure enthält. Die Anfangshefekonzentration kann bis zu 20 g/l Hefetrockensubstanz (HTS) betragen, vorzugsweise 10 g/l. Die Konzentration an Zucker in g/l beträgt das ein- oder mehrfache der Hefekonzentration, vorzugsweise das zweifache.

Die Phosphatmenge wird so gewählt, daß sich je 1 kg Zucker bis zu 50 g, vorzugsweise 20 - 35 g P_2O_5 in der Lösung befinden.

Die Menge an Ammonium-Stickstoff wird so niedrig wie möglich gehalten, jedoch hoch genug, um gerade noch eine volle Ausnutzung der Kohlenstoffquelle zur Hefemassebildung zu gewährleisten, d. h., daß mit 1 kg Zucker eine Hefeneubildung von ca. 0,5 kg HTS erreicht wird. Es werden 0 - 20 g, vorzugsweise 10 g Ammoniumstickstoff je 1 kg Zucker angewendet.

Das Fermentationsgemisch wird bei einer Temperatur von 25 - 35°, vorzugsweise 30° C intensiv belüftet.

Der pH-Wert wird auf Werten zwischen 7,5 und 5,5 gehalten und bei Bedarf mittels Laugen oder Säuren korrigiert.

Die Fermentation wird fortgesetzt, bis der maximale Ergosteringehalt der Hefe erreicht ist. Das tritt ca. 1 - 6 Stunden nach Beendigung des Hefewachstums ein. Die Gesamtdauer beträgt je nach den gewählten Konzentrationsverhältnissen 12 - 20 Stunden. Danach wird die Hefe in üblicher Weise von der Flüssigkeit abgetrennt, zur Stabilisierung des Ergosterins mit einem geeigneten Antioxidans versetzt und getrocknet.

Folgende Varianten der Durchführung sind möglich und vorteilhaft:

1. Der Ammoniumstickstoff wird portionsweise oder kontinuierlich zugesetzt, vorzugsweise im Verlauf der ersten 6 bis 10 Fermentationsstunden.
2. Zu Fermentationsbeginn wird nur ein Teil der erforderlichen Kohlenstoffquelle (z. B. 50 %) in Form von Zucker oder zuckerhaltigen Rohstoffen zugesetzt. Der Rest wird in Form von Ethanol oder ethanolhaltigen Flüssigkeiten wie z. B. vergorenen, entheften Maischen aus alkoholischen Gärprozessen mindestens 7 Stunden nach Fermentationsbeginn zugesetzt. Die Zugabe kann auch von diesem oder einem späteren Zeitpunkt an portionsweise oder kontinuierlich erfolgen.

Die so erhaltene Hefe enthält 0,8 - 1,5 % Ergosterin in der Trockensubstanz, bestimmt nach der Methode von O. Hummel (Z. Lebensmitteluntersuchung und Forschung 103 (1956), 190 - 198). Sie kann zur Gewinnung von Ergosterin verwendet oder durch UV-Bestrahlung in eine Vitamin-D₂ enthaltende Futtermittelkomponente umgewandelt werden. Es versteht sich von selbst, daß das Verfahren bei Einhaltung der bekannten hygienischen Forderungen ebenso zur Herstellung von Hefe für die menschliche Ernährung anwendbar ist.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

In ein 40 l-Glashängegefäß mit Rührer und Belüftungsring werden 10,6 l Wasser und 18 g Dikaliumhydrogenphosphat gegeben und auf 30° C temperiert.

0,9 l Hefesahne mit einem HTS-Gehalt von 124 g/l, die aus einer Melassespritzgärung absepariert wurde, sowie 480 g Melasse und 11,2 g Ammonsulfat werden hinzugefügt und das Gemisch wird bei 30° C mit 240 U/min gerührt und mit 360 l/h belüftet. Der anfangs neutrale pH-Wert sinkt rasch ab. Nach Erreichen von pH 6,0 wird der pH durch Regelung zwischen 6,3 und 5,5 gehalten. Nach 13 Stunden ist ein HTS-Gehalt von 19,2 g/l erreicht.

Nach 16 Stunden wird die Hefe mit einem Separator aus dem Gemisch abgetrennt, mit 30 mg eines Antioxidans vermischt und getrocknet. Man erhält eine Trockenhefe mit 4,5 % Feuchtgehalt und 0,9 % Ergosteringehalt.

Die eingesetzte Gärhefe enthält 0,15 % Ergosterin in der Trockensubstanz.

Beispiel 2

10 l Wasser, 11,8 g K_2HPO_4 und 0,86 l Gärhefesaure mit 140 g/l HTS-Gehalt, 240 g Melasse und 6 g $(NH_4)_2SO_4$ werden vereinigt, das Volumen wird auf 12 l ergänzt. Rührung, Belüftung, Temperierung des Gemisches sowie die pH-Führung erfolgen wie in Beispiel 1 angegeben. Zur 4. und 7. Fermentationsstunde werden je 6 g $(NH_4)_2SO_4$ zugesetzt. Von der 8. bis zur 12. Stunde werden 1,25 l vergorene, enthefte Maische einer Melasseprüfgärung mit einem Ethanolgehalt von 8,0 Masse-% kontinuierlich zugesetzt.

Nach einer Gesamtdauer von 18 Stunden wird die Fermentation abgebrochen und aufgearbeitet wie in Beispiel 1.

Man erhält 230 g Trockenhefe mit einem Ergosteringehalt von 1,35 %.

Beispiel 3

10 l Wasser werden mit 240 g Melasse, 5 ml Phosphorsäure (85 %ig) und 11 ml Ammoniaklösung (30 %ig) versetzt.

Nach Zusatz von 1,05 l Gärhefesaure mit 115 g/l HTS-Gehalt wird das Volumen auf 12 l ergänzt. Rührung, Belüftung, Temperierung und pH-Führung erfolgen wie im Beispiel 1. Zur 8., 10. und 12. Fermentationsstunde werden je 42 ml Ethanol (96 %ig) zugesetzt.

Nach 16 Stunden wird wie in Beispiel 1 beschrieben aufgearbeitet. Man erhält 240 g Trockenhefe mit einem Ergosteringehalt von 1,1 %.

1. Verfahren zur Gewinnung ergosterinreicher Hefe, gekennzeichnet dadurch, daß eine unter anaeroben Bedingungen gewachsene Hefe wie z. B. Gärhefen der Melassesprit- oder Biergewinnung in ein neues Fermentationsmedium überführt, darin intensiv belüftet und nach Erreichen des maximalen Ergosteringehalts in üblicher Weise aufgearbeitet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Anfangskonzentration an Hefe bis zu 20 g/l Hefetrockensubstanz beträgt, vorzugsweise 10 g/l.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet dadurch, daß das Fermentationsmedium Zucker oder zuckerhaltige Rohstoffe wie z. B. Rübenmelasse, Rohrmelasse, Zuckersäfte in einer solchen Menge enthält, daß die Zuckerkonzentration das ein- oder mehrfache der Konzentration an Hefetrockensubstanz beträgt, vorzugsweise das zweifache, Phosphate oder Phosphorsäure in einer Konzentration bis zu 50 g P_2O_5 /kg Zucker, vorzugsweise 20 bis 35 g P_2O_5 /kg Zucker und Ammoniumsalze oder Ammoniaklösung in einer Konzentration von 0 bis 20, vorzugsweise 10 g Ammoniumstickstoff/1 kg Zucker.
4. Verfahren nach Anspruch 1 - 3, gekennzeichnet dadurch, daß der pH-Wert zwischen 7,5 und 5,5 gehalten wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, gekennzeichnet dadurch, daß der Ammoniumstickstoff, portionsweise oder kontinuierlich zugesetzt wird, vorzugsweise im Verlauf der ersten 6 bis 10 Fermentationsstunden.
6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 5, gekennzeichnet dadurch, daß zu Fermentationsbeginn nur ein Teil der in Anspruch 3 genannten Menge an Zucker bzw. zuckerhaltigen Rohstoffen angewendet und eine dem restlichen Zucker entsprechende Menge Ethanol oder ethanolhaltiger Flüssigkeiten wie z. B. vergorene, enthefte Maischen aus alkoholischen Gärprozessen mindestens 7 Stunden nach Fermentationsbeginn zugesetzt werden.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet,
daß das Ethanol oder die ethanolhaltige Flüssigkeit
portionsweise oder kontinuierlich frühestens von
der 7. Fermentationsstunde an zugesetzt wird.